

# **Ο ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΩΣ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΑΥΤΟΦΥΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΓΙΑ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑ**

Μ. Παπαφωτίου

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Ανθοκομίας & Αρχιτεκτονικής Τοπίου, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

## **Περίληψη**

Η χρήση αυτοφυών ειδών σε τοπικά πάρκα και κήπους συμβάλλει στη βιοποικιλότητα και την αειφορία και προβάλλει το χαρακτήρα της περιοχής. Κατά τη διάρκεια των 15 τελευταίων ετών έχουν γίνει αρκετές ερευνητικές προσεγγίσεις που αφορούν στη χρήση αυτοφυών ειδών της Μεσογειακής χλωρίδας στο τοπίο πρωτίστων και δευτερευόντων ως γλαστρικά ή δρεπτά. Μεγάλος αριθμός αυτών των εργασιών αφορά στον πολλαπλασιασμό των ειδών αυτών, ως πρώτο βήμα ένταξής τους στην επιχειρηματική παραγωγή. Η παρούσα ομιλία εστιάζει στον πολλαπλασιασμό αυτοφυών ειδών με *in vitro* τεχνικές. Η μέθοδος του μικροπολλαπλασιασμού ενδείκνυται, καθώς δίνει σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλες ποσότητες άνοσου και πιστού της ποικιλίας πολλαπλασιαστικού υλικού. Είναι η προτεινόμενη μέθοδος για πολλαπλασιασμό σπάνιων και υπό εξαφάνιση αυτοφυών ειδών, καθώς δεν αφαιρείται από το φυσικό περιβάλλον μεγάλη ποσότητα φυτικού υλικού. Γίνεται αναφορά σε θέματα που αφορούν στο είδος και την εποχή λήψης των εκφύτων από τα μητρικά φυτά, στην απολύμανση του φυτικού υλικού, στο θρεπτικό υπόστρωμα και τις φυτορυθμιστικές ουσίες με στόχο τη βλαστογένεση και ριζογένεση, σε προβλήματα υπερενυδάτωσης. Θα συγκριθούν είδη αυτοφυών φυτών ως προς την αντίδρασή τους κατά τα διάφορα στάδια του μικροπολλαπλασιασμού, ήτοι αρχική εγκατάσταση, βλαστογένεση, ριζοβολία, εγκλιματισμός των φυταρίων σε *ex vitro* συνθήκες.

**Λέξεις κλειδιά:** ιστοκαλλιέργεια, *in vitro*, καλλωπιστικά, ενδημικά, ξηροφυτικά, ιθαγενή, επαπειλούμενα, φυτορυθμιστικές ουσίες, υπερενυδάτωση, υάλωση, ριζοβολία, βλαστογένεση, εγκλιματισμός, *Arbutus andrachne*, *Arbutus x andrachnoides*, *Arbutus unedo*, *Dianthus fruticosus*, *Euphorbia characias*, *Globularia alypum*, *Lilium chalcedonicum*, *Lithodora zahnii*, *x Malosorbus florentina*, *Quercus euboica*, *Sideritis athoa*, *Thymelaea hirsuta*.

## **Εισαγωγή**

Η χρήση αυτοφυών ειδών στη διαμόρφωση του τοπίου συμβάλλει στη βιοποικιλότητα και την αειφορία και προβάλλει το χαρακτήρα της περιοχής. Επιπροσθέτως μεσογειακά είδη ως δρεπτά ή γλαστρικά, μπορεί να κερδίσουν τόπο στις αγορές ανθοκομικών καθώς ξυπνούν παιδικές μνήμες, αναμνήσεις διακοπών και περιηγήσεων, αισθήσεις και συναισθήματα, σε Μεσόγειους αλλά και Βοριευρωπαίους, ενώ η παραγωγή τους στη χώρα μας είναι στα πλαίσια της αειφορίας, καθώς απαιτεί μικρότερες εισιτοριές, λόγω μειωμένων απαιτήσεων σε κατανάλωση ενέργειας για θέρμανση και δροσισμό, μικρότερης κατανάλωσης νερού, αλλά και απλούστερων προδιαγραφών θερμοκηπιακών μονάδων και φυτωρίων (Παπαφώτιου, 2009).

Κατά τη διάρκεια των 20 τελευταίων ετών έχουν γίνει πολλές ερευνητικές προσεγγίσεις που αφορούν στην αξιοποίηση αυτοφυών ειδών της Μεσογειακής χλωρίδας στην επιχειρηματική ανθοκομία, οι περισσότερες εκ των οποίων αφορούν στον πολλαπλασιασμό των ειδών αυτών (Gonçalves & Roseiro, 1994, Cabrera-Perez, 1995, Kovacs, 1995, Meszaros et al., 1999, Papafotiou et al., 2000a,β,γ, Κάρτσωνας κ.ά., 2001, Λιμνιάτης κ.ά., 2001, Μπερτσουκλής κ.ά., 2001, Παπαφωτίου κ.ά., 2001a,β, Σύρος & Οικονόμου, 2001, Χατζηλαζάρου κ.ά., 2001, Mereti et al., 2002, Prolic et al., 2002, Dragassaki et al., 2003, Bertsouklis, et al., 2003, Μπερτσουκλής κ.ά., 2003, Παπαφωτίου κ.ά., 2003, Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2004, Μαλούπα, κ.ά., 2004, Μπερτσουκλής κ.ά., 2004a, Παπαφωτίου & Μήκος, 2004, Cristea et al., 2006, Misic et al., 2006, Kart-

sonas & Papafotiou, 2007, Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2007a,β, Μαυραγάνης κ.ά., 2007, Μπερτσουκλής κ.ά., 2007a,β,γ, Παπαφωτίου κ.ά., 2007, Bertsouklis & Papafotiou, 2009, Gomes & Canhoto, 2009, Kartsonas & Papafotiou, 2009, Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2009, Martini & Papafotiou, 2009, Μαρτίνη & Παπαφωτίου, 2009, Μπερτσουκλής & Παπαφωτίου, 2009, Papafotiou & Kalantzis, 2009a,β, Παπαφωτίου & Καλαντζής, 2009a,β, Papafotiou & Martini, 2009a,β, Papafotiou & Stragas, 2009, Παπαφωτίου & Στράγκας, 2009, Ροντογιάννη, 2009, Bertsouklis & Papafotiou, 2010a,β, El-Sayed El-Mahrouk et al., 2010, Gomes et al., 2010, Kartsonas & Papafotiou, 2010, Ακουμιανάκη-Ιωαννίδου κ.ά., 2011, Bertsouklis & Papafotiou, 2011, Martini & Papafotiou, 2011, Μαρτίνη & Παπαφωτίου, 2011a,β,γ,δ, Μπερτσουκλής & Παπαφωτίου, 2011a,β,γ, Παπαφωτίου κ.ά., 2011a,β,γ, Ράλλη & Δόρδας, 2011, Χατζηλαζάρου κ.ά., 2011), αλλά και στην αξιοποίησή τους στο αστικό τοπίο (Κουτρή & Παπαφωτίου, 2011a,β, Παπαναστασάτος & Παπαφωτίου, 2011a,β, Περγιαλιώτη & Παπαφωτίου, 2011a,β, Τασούλα & Παπαφωτίου, 2011a,β).

Η μέθοδος του μικροπολλαπλασιασμού ενδείκνυται, καθώς δίνει σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλες ποσότητες άνοσου και πιστού της ποικιλίας πολλαπλασιαστικού υλικού. Είναι η ενδεδειγμένη μέθοδος για πολλαπλασιασμό σπάνιων και υπό εξαφάνιση αυτοφυών ειδών, καθώς δεν αφαιρείται από το φυσικό περιβάλλον μεγάλη ποσότητα φυτικού υλικού. Επιπλέον μπορεί να είναι αρκετά φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος αγενούς πολλαπλασιασμού, λόγω περιορισμού της υδατοκατανάλωσης και των αναγκών σε ενέργεια, σε σύγκριση με με-

θόδους που απαιτούν εκτεταμένες θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις.

Τα τελευταία 15 έτη, έχει μελετηθεί στο εργαστήριο Ανθοκομίας και Αρχιτεκτονικής Τοπίου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών ο μικροπολλαπλασιασμός ενός αριθμού αυτοφυών ειδών της Ελλάδας και γενικώς της Νοτιοανατολικής Μεσογείου, ως ένα πρώτο βήμα για την εισαγωγή τους στην επιχειρηματική ανθοκομία, κυρίως ως καλλωπιστικά φυτά. Τα είδη αυτά θεωρούμε ότι διαθέτουν μορφολογικά, φυσιολογικά και βιολογικά χαρακτηριστικά που τα καθιστούν ικανά για χρήση σε αστικές, περιαστικές, αγροτικές και ορεινές διαμορφώσεις τοπίου, ενώ πολλά εξ αυτών μπορεί να αποτελέσουν και νέα είδη γλαστρικών φυτών. Στα είδη που έχουν μελετηθεί περιλαμβάνονται τα *Arbutus andrachne*, *Arbutus x andrachnoides*, *Arbutus unedo*, *Dianthus fruticosus*, *Euphorbia characias*, *Globularia alypum*, *Lilium chalcedonicum*, *Lithodora zahnii*, *x Malosorbus florentina*, *Quercus euboica*, *Sideritis athoa* και *Thymelaea hirsuta*.

Τα *A. andrachne* (γλυστροκουμαριά, άγρια κουμαριά) και *A. unedo* (κουμαριά), καθώς και το φυσικό τους υβρίδιο *A. x andrachnoides* ανήκουν στην οικογένεια *Ericaceae* και είναι τα τρία είδη *Arbutus* που απαντώνται στην Ελλάδα. Αειθαλείς θάμνοι (1,5 έως 3 m ύψος) με ελκυστικό φύλλωμα και πορτοκαλοκόκκινους καρπούς κατά τη χειμερινή περίοδο (Καββάδας, 1956, Polunin, 1987), είναι κατάλληλοι για χρήση ως καλλωπιστικά φυτά στο τοπίο (το *A. unedo* χρησιμοποιείται ήδη ως καλλωπιστικός θάμνος και ως δρεπτό φύλλωμα την περίοδο των Χριστουγέννων), αλλά και σε αναδασώσεις λόγω της εύκολης αναβλάστησης μετά από πυρκαγιά. Το *A. andrachne* λόγω της διάταξης των κλάδων του και του λείου, κοκκινωπού φλοιού του είναι ιδιαίτερα ελκυστικό φυτό κατάλληλο και για μεμονωμένη χρήση ως είδος εστίασης στην κηποτεχνία.

Το *Q. euboica* Pap. (Fagaceae) είναι ένα σπάνιο είδος βελανιδιάς, ενδημικό σε μια μικρή έκταση της βορειοανατολικής Εύβοιας, μικρό δέντρο ή μεγάλος θάμνος, που παράγει λίγα βιώσιμα σπέρματα (Christensen, 1995).

Το *x M. florentina* Zucc. (Rosaceae) είναι ένα φυλλοβόλο μικρό δέντρο, σπάνιο και επαπειλούμενο είδος στην Ελλάδα (Christensen, 1995). Φέρει λευκά άνθη το Μάιο μέχρι τις αρχές Ιουνίου και κιτρινο-κόκκινους καρπούς και πορτοκαλο-κόκκινο φύλλωμα το φθινόπωρο. Τα *Q. euboica*, *x M. Florentina*, όπως και τα *Arbutus* sp., είναι κατάλληλα για χρήση στην κηποτεχνία και σε αναδασώσεις.

Το *Th. hirsuta* L. (Thymelaeaceae) είναι ένας πολύ ιδιαίτερος, πολυδιακλαδίζομενος θάμνος (μέχρι 1 m ύψος), με εριώδεις κλάδους και πολυάριθμα, μικρά, σαρκώδη, σκουροποράσινα, λεπτοειδή φύλλα. Ανθίζει για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, από τον Οκτώβριο έως το Μάιο και τα άνθη είναι πολύ μικρά, κιτρινωπά, σε συστάδες (Huxley & Taylor, 1977, Polunin, 1987).

Το *E. characias* L. ssp. *wulfenii* (Koch) (Euphorbiaceae, φιδόχορτο, γαλατσίδα) είναι ένας ορθόκλαδος, εντυπωσιακός, ποώδης θάμνος (ύψους 1-1.5 m), με πράσινο-γκρι δερματώδη φύλλα, που φέρει κυλινδρικές ταξιανθίες, με διακοσμητικά, κιτρινωπά βράκτια και κίτρινους αδένες από Μάρτιο έως Μάιο (Polunin, 1987).

Το *L. zahnii* (Heldr. ex Halacsy) I.M. Johnston (*Lithospermum zahnii*, Boraginaceae) είναι ένας πυκνός, χαμηλός θάμνος (0,5-1 m ύψος), με γκριζοπράσινα, επιμήκη φύλλα, που φέρει μπλε ή λευκά άνθη από τέλη Μαρτίου έως τον Ιούνιο. Είναι ενδημικό, επαπειλούμενο είδος της Ελλάδας (Blamey & Grey-Wilson, 1993; Polunin, 1987).

Το *S. athoa* (Lamiaceae) είναι ένα αλπικό, αρωματικό φυτό (0,2 έως 0,5 m ύψος), που χρησιμοποιείται ως ρόφημα (τσάι του βουνού). Ανθίζει Μάιο-Ιούλιο και είναι πολύ ανθεκτικό σε ακραίες θερμοκρασίες και χαμηλή υγρασία, λόγω του μεγάλου αριθμού των μικρών τριχών που καλύπτουν την επιφάνειά του (Goliaris & Roupkias, 1997). Αν και αλπικό φυτό, καλλιεργήθηκε με επιτυχία και σε χαμηλό υψόμετρο (περιοχή Μαραθώνα Αττικής).

Το *D. fruticosus* L. (Caryophyllaceae) είναι ενδημικό φυτό της Ελλάδας, που απαντάται σε μικρής έκτασης, πετρώδεις και βραχώδεις περιοχές των Κυκλαδών. Είναι ένας μικρός θάμνος (μέχρι 0,5 m ύψος), με στενά σαρκώδη φύλλα, που φέρει άφθονα, σκούρο ροζ λουλούδια τον Ιούλιο-Αύγουστο (Huxley & Taylor, 1977, Polunin, 1987).

Το *G. alypum* L. (Globulariaceae) είναι ένα από τα πιο ξεχωριστά ξηρόφυτα της Ελλάδας. Πολυδιακλαδίζομενος, μικρός, αειθαλής θάμνος (0,3 - 1 m ύψος), που φέρει πολλές σφαιρικές μωβ-μπλε ανθικές κεφαλές το Φεβρουάριο - Μάιο και φύεται σε θαμνώνες, δάση και ξηρές βραχώδεις θέσεις (Polunin, 1987).

Τα *D. fruticosus*, *E. characias*, *G. alypum*, *L. zahnii*, *S. athoa* και *Th. Hirsute*, ως μικροί, αειθαλείς θάμνοι, με μεγάλη ανοχή στις ξηροφυτικές συνθήκες, θα μπορούσαν να εισαχθούν σε περιοχές της Μεσογείου, για χρήση σε φυτοδώματα, αρχαιολογικούς χώρους, παρτέρια, βραχόκηπους, για αποκατάσταση υποβαθμισμένων περιοχών και για σταθεροποίηση πρανών.

Το *L. chalcedonicum* (Liliaceae, κόκκινος κρίνος), είναι ένα ενδημικό, βολβώδες, που αυτοφύεται σε δασοσκεπείς, ορεινές, βραχώδεις περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας, της Πελοπονήσου, του Ιονίου και της Εύβοιας. Έχει μήκος στελέχους 0,6-1,2 m, με 1-6 λαμπερά κόκκινα άνθη, ελαφρώς εύοσμα, από Ιούλιο έως Αύγουστο (Καββάδας, 1956). Θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως καλλωπιστικό, αλλά και ως δρεπτό.

Δεν υπάρχουν δημοσιευμένες εργασίες από άλλα εργαστήρια, πλην του δικού μας, για μικροπολλαπλασιασμό των ανωτέρω ειδών, πλην του *A. unedo* (Gonçalves & Roseiro, 1994; Mereti et al., 2002; Gomes et al., 2009; Gomes et al., 2010; El-Sayed El-Mahrouk et al., 2010) και του *A. Andrachne* (Bertsouklis & Papafotiou, 2009; Mostafa et al., 2010). Υπάρχουν επίσης αναφορές για μικροπολλαπλασιασμό κάποιων σπάνιων και ενδημικών ειδών *Dianthus* (Cristea κ.ά., 2006, Berardi et al., 2006, Prolic et al., 2002, Kovac, 1995), ενώ έχουν παραχθεί *in vitro* κάλλοι *E. characias* για φαρμακευτικούς σκοπούς (Fernandes-Ferreira et al., 1992).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να αναδειξει μεθόδους προσέγγισης του μικροπολλαπλασιασμού αυτοφυών μεσογειακών φυτών, καθώς και προβλημάτων που προκύπτουν κατά την εφαρμογή του, μέσα από παραδείγματα από την εμπειρία μας στον μικροπολλαπλασιασμό των ανωτέρω αυτοφυών ειδών της Ελλάδας.

## Υλικά και Μέθοδοι

### Εγκατάσταση *in vitro* καλλιεργειών

Και για τα τρία είδη του γένους *Arbutus* εγκαταστάθηκαν αρχικές καλλιέργειες *in vitro* τόσο από ενήλικα αυτοφυή φυτά, όσο και από νεαρά σπιρόφυτα 1-2 μηνών καλλιεργημένα *in vitro*. Στα *Q. euboica* και *M. florentina* η *in vitro* εγκατάσταση έγινε από ενήλικο αυτοφυές φυτό και από νεανικά φυτά ενός ή δύο ετών (*σπιρόφυτα*), καθώς και από φυτά που προήλθαν από *in vitro* καλλιέργεια ενήλικων φυτών, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση της ηλικίας του μητρικού στην εγκατάσταση *in vitro* καλλιέργειας.

Στα χαμηλά θαμνώδη είδη *Th. hirsuta*, *S. athoa*, *L. zahnii*, *G. alypum*, *D. fruticosus* ως μητρικά χρησιμοποιήθηκαν σπιρόφυτα 1-2 μηνών καλλιεργημένα *in vitro*, ενώ στην *E. characias* σπιρόφυτα 3-5 μηνών καλλιεργημένα σε θερμοκήπιο. Στα *Th. hirsuta* και *E. characias* δοκιμάστηκαν και ενήλικα αυτοφυή φυτά ως μητρικά. Στο *L. chalcedonicum* χρησιμοποιήθηκε βολβός ενήλικου φυτού.

Ως έκφυτα χρησιμοποιήθηκαν τεμάχια βλαστού μήκους περίπου 0,6 cm με ένα συνήθως κόμβο, ή κορυφές βλαστών. Από τα νεαρά σπιρόφυτα η λήψη εκφύτων γινόταν ανεξαρτήτως εποχής, ενώ από τα ενήλικα φυτά τα έκφυτα παίρνονταν κατά την περίοδο της βλαστικής ανά-

πτυξης (Μάιος-Σεπτέμβριος) από την τρέχουσα βλάστηση. Ως έκφυτα χρησιμοποιήθηκαν τεμάχια βλαστού μήκους περίπου 0,6 cm με ένα συνήθως κόμβο, ή κορυφές βλαστών. Από τα νεαρά σπορόφυτα η λήψη εκφύτων γινόταν ανεξαρτήτως εποχής, ενώ από τα ενήλικα φυτά τα έκφυτα παίρνονταν κατά την περίοδο της βλαστικής ανάπτυξης (Μάιος-Σεπτέμβριος) από την τρέχουσα βλάστηση. Εξαίρεση απετέλεσε το *M. florentina* όπου χρησιμοποιήθηκαν, εκτός από κορυφές βλαστών τρέχουσας βλάστησης σε διάφορους μήνες κατά τη βλαστική περίοδο, και κορυφές ξυλοποιημένων βλαστών ενός έτους (επιμήκεις βλαστοί και λογχοειδή) νωρίς την άνοιξη (Μάρτιο, πριν την έκπτυξη των οφθαλμών).

#### Απολύμανση εκφύτων

Έκφυτα από *ex vitro* μητρικά φυτά πλύθηκαν υπό ανάδευση (10 min), με ένα ελαφρύ απορρυπαντικό, ξεπλύθηκαν κατακόρυφα κάτω από τρεχούμενο νερό βρύσης (10 min), απολυμάνθηκαν επιφανειακά, υπό ανάδευση, με υδατικό διάλυμα 15-30% (v/v) εμπορικής χλωρίνης (4,6% w/v sodium hypochlorite) με μερικές σταγόνες Tween 20, για 10-15 min αναλόγως του πάχους του βλαστού, και ξεπλύθηκαν, υπό ανάδευση, 3-4 φορές, για 3 min την κάθε φορά, με αποσταγμένο, αποστειρωμένο νερό. Ειδικά στο *M. florentina* από τον κορυφαίο οφθαλμό ξυλοποιημένων βλαστών ενός έτους, αφαιρέθηκαν τα εξωτερικά λέπια, καθώς και ο φλοιός του βλαστού πριν την απολύμανση σε διάλυμα χλωρίνης 10% με Tween 20 για 10 min, και έγινε και ένα επιπλέον ζέπλουμα με αποσταγμένο, αποστειρωμένο νερό αμέσως πριν την τοποθέτηση των εκφύτων στο υπόστρωμα καλλιέργειας για ελαχιστοποίηση των φαινολικών ενώσεων.

#### Θρεπτικά υποστρώματα

Τα έκφυτα των ειδών *Arbutus* και *Q. euboica* καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα που αποτελείτο από τα βασικά άλατα του WPM (McCown & Lloyd, 1981) και 100 mg/l μυο-ινοζιτόλη, 1 mg/l θειαμίνη, 0,5 mg/l νικοτινικό οξύ, 0,5 mg/l πυριδοξίνη, ενώ όλα τα άλλα είδη καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα MS (Murashige & Skoog, 1962), πλήρους ή μισής δύναμης. Τα υποστρώματα εμπλουτίστηκαν με διάφορα είδη και συγκεντρώσεις αυξήνης και κυτικινής. Στους Πίν. 1 & 2 παρουσιάζονται το είδος και η συγκέντρωση των φυτορυθμιστικών ουσιών (PGRs) που έδωσαν το καλύτερο αποτέλεσμα σε κάθε στάδιο της *in vitro* καλλιέργειας του κάθε είδους φυτού. Όλα τα υποστρώματα περιείχαν 30 mg/l σακχαρόζη, εκτός αυτών για την καλλιέργεια των *D. fruticosus*, *E. characias*, *G. alypum*, *L. zahni* και *S. athoa* που περιείχαν 20 mg/l. Έκφυτα από ενήλικα φυτά *E. characias* καλλιεργήθηκαν σε υποστρώματα που περιείχαν και 5 mg/l ασκορβικό οξύ ως αντιοξειδωτικό.

Όλα τα υποστρώματα στερεοποιήθηκαν με 8 g/l άγαρ (Industrias ROKO S.A., total ashes 3.3%) και το pH τους ρυθμίστηκε στο 5.7 πριν την αποστείρωση στους 121 °C για 20 min.

Σε κάποιες περιπτώσεις που υπήρξε πρόβλημα υπερενυδάτωσης, αντιμετωπίστηκε με μεγαλύτερη συγκέντρωση άγαρ (12 ή 20 g/l), ή σακχαρόζης (30 g/l), καθώς και με τη χρήση διαφανούς μεμβράνης περιτυλίγματος (Sanitas, Σαράντης, A.E.) για κάλυψη των δοχείων καλλιέργειας.

Οι *in vitro* καλλιέργειες διατηρούνταν στους 25 °C και 16 h φωτοπεριόδο με 37.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$  λευκό φως.

#### *Ex vitro* εγκλιματισμός

Έρριζοι μικροβλαστοί εγκλιματίστηκαν σε παλέτες ( $d=5$  cm) με υπόστρωμα τύρφης-περλίτη (1:1 ή 1:2 v/v) (εκτός του *Q. euboica* που εγκλιματίστηκε σε έδαφος από την περιοχή που αυτοφύεται, Εύβοια), σε υδρονέφωση θερμαινόμενου, υαλόφρακτου θερμοκηπίου, ή εναλλακτικά σε θάλαμο σταθερών συνθηκών ίδιων με

αυτές κατά την καλλιέργεια, για 10-15 ημέρες, όπου αρχικά οι γλάστρες καλύπτονταν με μεμβράνη Sanitas, η οποία αφαιρούνταν σταδιακά, και στη συνέχεια μεταφέρονταν σε θερμαινόμενο, υαλόφρακτο θερμοκηπίο.

#### Στατιστική επεξεργασία

Χρησιμοποιήθηκε το εντελώς τυχαιοποιημένο σχέδιο. Η σημαντικότητα των επεμβάσεων ελέγχθηκε με one- ή two-way ANOVA και η σύγκριση των μέσων έγινε με Student's *t* ή Tukey's HSD σε  $P=0.05$ . Ο αριθμός των παρατηρήσεων διέφερε αναλόγως με το είδος του φυτού και το στάδιο της καλλιέργειας (8-38 στο στάδιο της αρχικής εγκατάστασης, 25-50 στο στάδιο του πολλαπλασιασμού των μικροβλαστών και της ριζοβολίας). Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν τουλάχιστον μια φορά.

## Αποτελέσματα και Συζήτηση

#### Αρχική εγκατάσταση *in vitro* καλλιεργειών

*In vitro* καλλιέργειες των ειδών *A. andrachne*, *A. unedo*, *A. x andrachnoides* και *Q. euboica* εγκαταστάθηκαν επιτυχώς και σχετικά εύκολα από έκφυτα προερχόμενα από αυτοφυή ενήλικα φυτά (Bertsouklis & Papafotiou, 2009, Λυμιάτης κ.ά., 2001, Bertsouklis & Papafotiou, 2011, Kartsonas & Papafotiou, 2007, 2009, αντιστοίχως). Έκφυτα από νεανικά φυτά (σπορόφυτα) των ανωτέρω ειδών εμφάνισαν πέραν των πολύ μειωμένων ποσοστών μολύνσεων σε σχέση με τα έκφυτα από ενήλικα φυτά και μεγαλύτερη παραγωγή βλαστών ανά έκφυτο (Πίνακες 1,3, Σχήμα 1, Παπαφωτίου κ.ά., 2011a,β,γ, Kartsonas & Papafotiou, 2007).

Η χρήση εκφύτων από ενήλικα φυτά ήταν προβληματική στο *M. florentina*, λόγω υψηλότατου ποσοστού μολύνσεων, δεδομένου ότι καταλληλότερα έκφυτα ήταν οι κορυφές βλαστών προηγούμενους έτους, πριν την έκπτυξη του φυλλώματος, το Μάρτιο. Επίσης χαμηλό ήταν και το ποσοστό των εκφύτων που εμφάνισαν βλαστογένεση (33%), καθώς παρατηρήθηκε καφέτιασμα και νεκρωση των εκφύτων λόγω ενδογενών φαινολικών ουσιών. Παρόλα αυτά, στις ακόλουθες υποκαλλιέργειες ο ρυθμός πολλαπλασιασμού ήταν υψηλός (Πίνακας 1,2,3, Papafotiou & Martini, 2009a) (. Έκφυτα από σπορόφυτα εμφάνισαν πέραν των πολύ μειωμένων ποσοστών μολύνσεων και πολύ μεγαλύτερο ποσοστό βλαστογένεσης (83%, Μαρτίνη και Παπαφωτίου, μη δημοσιευμένο).

Στα χαμηλής ανάπτυξης θαμνώδη είδη *D. fruticosus*, *G. alypum*, *L. zahni*, *S. athoa* και *Th. hirsuta* έγινε επιτυχής αρχική εγκατάσταση *in vitro* καλλιεργειών με έκφυτα από σπορόφυτα 1-2 μηνών αναπτυγμένα *in vitro* (Πίνακας 1, Papafotiou & Stragas, 2009, Bertsouklis et al., 2003, Papafotiou & Kalantzis, 2009a, Papafotiou & Kalantzis, 2009β, Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2004, αντιστοίχως). Παρομίως και στο *E. characias*, μόνο που η καλλιέργεια των σποροφύτων έγινε *ex vitro*, στο θερμοκηπίο. Στο είδος αυτό βλαστογένεση εμφάνισαν μόνο κόμβοι της βάσης του στελέχους των ηλικίας 3-5 μηνών σπορόφυτων, ενώ οι παραπάνω κόμβοι έδωσαν κάλο (Παπαφωτίου & Μήκος, 2004).

Η αντίδραση των εκφύτων επηρεάστηκε από την εποχή του έτους, στα είδη των φυτών, που η *in vitro* εγκατάσταση των καλλιεργειών έγινε μέσω εκφύτων, από φυτά που αναπτύσσονταν σε *ex vitro* συνθήκες, ήτοι *A. andrachne*, *M. florentina* and *Q. euboica* (Μπερτσουκλής & Παπαφωτίου, μη δημοσιευμένο, Papafotiou & Martini, 2009β, Kartsonas & Papafotiou, 2007, αντιστοίχως), εκτός του *A. unedo*, που εμφάνισε μια σταθερή αντίδραση των εκφύτων κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου (Μάιος-Σεπτέμβριος) και του *E. characias*, όπου τα έκφυτα προήλθαν από νεαρά σπορόφυτα. Τα *A. andrachne* και *Q. euboica* αντέδρασαν καλύτερα αργά την Άνοιξη (80 και 75% βλαστογένεση, αντιστοίχως) σε σχέση με τα καλοκαίρι.

Στο *Q. euboica* έκφυτα κόμβου από ενός ή δύο ετών σπορόφυτα έδωσαν περισσότερους βλαστούς σε σχέση με έκφυτα από ενήλικα φυτά, όπως ήδη αναφέρθηκε ανωτέρω, ενώ η δυνατότητα παραγωγής βλαστών των εκφύτων ήταν μειωμένη τον Ιούλιο σε σύγκριση με το Μάιο και έφτασε στο κατώτερο επίπεδο το Σεπτέμβριο (Σχήμα 1, Kartsonas & Papafotiou, 2007). Έκφυτα από ενήλικα φυτά εμφάνισαν μείωση της βλαστογενετικής τους ικανότητας νωρίτερα στο χρόνο, πιθανόν λόγω του ότι τα ενήλικα φυτά σταματούν την ανάπτυξη τους πιο νωρίς το καλοκαίρι σε σύγκριση με τα σπορόφυτα (Heide, 1974).

Οι επάκριοι οφθαλμοί του *M. florentina* διέφεραν ως προς την αντίδρασή τους στην *in vitro* καλλιέργεια αναλόγως της εποχής. Οφθαλμοί που εξήχθησαν το Μάρτιο, πριν την έκπτυξη, έδειξαν μεγάλη βλαστογενετική ικανότητα, ιδίως στις υποκαλλιέργειες, οφθαλμοί που εξήχθησαν το Μάιο, κατά τη διάρκεια της ταχείας επιμήκυνσης του βλαστού, έδωσαν μόνο κάλο κατά την *in vitro* καλλιέργεια, και οφθαλμοί που εξήχθησαν τον Ιούνιο, κατά το τέλος της βλαστικής ανάπτυξης, έδωσαν ένα μόνο μικροβλαστό ανά έκφυτο και έκφυτα από αυτούς τους μικροβλαστούς είχαν μικρή δυναμική πολλαπλασιασμού στις υποκαλλιέργειες (Σχήμα 2, Papafotiou & Martini, 2009β). Εποχική επίδραση στην αντίδραση εκφύτων έχει δειχθεί και σε άλλα είδη φυτών (Papafotiou et al., 2001, Romano κ.ά., 2002).

Όταν τα έκφυτα προέρχονταν από ενήλικα φυτά, το WPM ευνόησε τη βλαστογένεση, με εξαίρεση το *M. florentina*, όπου το WPM προκάλεσε ξήρανση κορυφής στους μικροβλαστούς και το MS ήταν πλέον κατάλληλο υπόστρωμα για παραγωγή βλαστών στο είδος αυτό. Όταν τα έκφυτα προέρχονταν από νεαρά σπορόφυτα, χρησιμοποιήθηκε MS (Πίνακας 1, Papafotiou & Stragas, 2009, Παπαφωτίου & Μήκος, 2004, Bertsouklis κ.ά., 2003, Papafotiou & Kalantzis, 2009α,β, Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2004), με εξαίρεση τα είδη *Arbutus*, όπου έδωσαν καλά αποτελέσματα και τα δύο θρεπτικά υποστρώματα (Πίνακες 1,3, Παπαφωτίου κ.ά., 2011α,β,γ).

Στα περισσότερα είδη φυτών, η παραγωγή βλαστών έγινε παρουσία κυτοκινίνης, εκτός του *Th. hirsuta*, όπου η χρήση κυτοκινίνης δεν επέδρασε και του *G. alyrum*, όπου η κυτοκινίνη παρεμπόδισε τη βλαστογένεση, καθώς η προσθήκη 0.5 mg/l BA στο υπόστρωμα μειώσει το ποσοστό των εκφύτων που έδωσαν βλαστό από το 100 στο 60%. Η BA ήταν αποτελεσματική στα περισσότερα είδη (Πίνακας 1), με εξαίρεση το *D. fruticosus*, όπου η 2iP επέφερε καλύτερα αποτελέσματα (Papafotiou & Stragas, 2009) και τα είδη *Arbutus*, κυρίως τα *A. andrachne* και *A. andrachnoides*, όπου παραγωγή βλαστών έγινε με 2iP και zeatin (Bertsuklis & Papafotiou, 2009, Bertsouklis & Papafotiou, 2011). Έκφυτα *A. andrache* υπό την παρουσία BA στο υπόστρωμα έδωσαν μεν βλαστούς, οι οποίοι όμως δεν επιμήκυνθηκαν και επομένως δεν ήταν δυνατό να υποκαλλιεργηθούν, ώστε να πολλαπλασιαστεί η καλλιέργεια. Παρόμοιο πρόβλημα στο *A. unedo* (που διαπιστώθηκε και στη δουλειά των Meriti et al., 2002) ξεπεράστηκε με την προσθήκη αυξίνης (NAA) μαζί με τη BA στο υπόστρωμα καλλιέργειας (Πίνακας 1). Όμως η προσθήκη NAA (0.2-10 mg/l) δεν έλυσε το πρόβλημα στο *A. andrache*, όπου επιμήκυνση των βλαστών επήλθε με τη χρήση 2iP ή zeatin (Bertsuklis & Papafotiou, 2009). Παρόμοια αποτελέσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των κυτοκινινών στην παραγωγή βλαστών έχουν βρεθεί σε αρκετά είδη της οικογένειας *Ericaceae* (*Arctostaphylos*, *Erica*, *Gautheria*, *Kalmia*, *Rhododendron* και *Vaccinium*), όπου η 2iP βρέθηκε πιο αποτελεσματική από τη BA (Norton & Norton, 1985, Debnath & McRae, 2001). Στα *D. fruticosus* και *E. characias* η BA συνδυάστηκε με NAA για παραγωγή βλαστών και στο *M. florentina* με IBA (Πίνακας 1).

Ιδιαιτερότητα παρουσίασε το *L. chalcedonicum* όπου χρησιμοποιήθηκε 2,4-D σε συνδυασμό με BA για παραγωγή βολβιδών από τα τεμάχια σκελίδων, η οποία έγινε

μέσω κάλου (Πίνακας 1, Παπαφωτίου κ.ά., 2001).

#### Πολλαπλασιασμός

Κατά τη φάση του πολλαπλασιασμού της καλλιέργειας το *A. unedo* χρειάστηκε υψηλότερη συγκέντρωση NAA, απ' ότι κατά τη φάση της εγκατάστασης της καλλιέργειας, για να δώσει επιμήκεις βλαστούς ικανούς για περαιτέρω υποκαλλιέργεια, ενώ το *E. characias* χρειάστηκε χαμηλότερη συγκέντρωση φυτορυθμιστικών ουσιών για μεγαλύτερη παραγωγή βλαστών σε σύγκριση με τη φάση της εγκατάστασης. Τα υπόλοιπα είδη πολλαπλασιάστηκαν στα ίδια υποστρώματα με αυτά της αρχικής εγκατάστασης (Πίνακας 2). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το αποτέλεσμα όπου τα είδη *L. zahnii* και *S. athoa* πολλαπλασιάστηκαν σε υπόστρωμα με IBA μόνο, εμφανίζοντας συγχρόνως, ως αναμενόταν, και ριζοβολία (Πίνακας 2).

Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού ήταν χαμηλός στο *Q. euboica*, όπως έχει δειχθεί και για άλλα είδη *Quercus* (Puddrehat et al., 1997, Vieitez et al, 1993). Επίσης χαμηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού είχε και το *E. characias*, όπως και το *A. unedo*, όταν η εγκατάσταση της καλλιέργειας έγινε από ενήλικα φυτά (Πίνακας 3). Η εγκατάσταση καλλιέργειας από σπορόφυτα και πιθανόν η χρήση zeatin επέφερε αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού στο *A. unedo*, ο οποίος όμως παρέμεινε χαμηλότερος αυτού των άλλων δύο ειδών *Arbutus* (Πίνακας 3). Ενδιαφέρον είναι το ότι το υβρίδιο *A. andrachnoides* εμφάνισε ρυθμό πολλαπλασιασμού ενδιάμεσο των δύο μητρικών του ειδών *A. unedo* και *A. andrachne* (Πίνακας 3, Παπαφωτίου κ.ά., 2011α,β,γ).

Στο *L. chalcedonicum* η υποκαλλιέργεια κάλου στο υπόστρωμα αρχικής εγκατάστασης (2,5 mg/l 2,4-D και BA) έδωσε ικανοποιητικό ρυθμό πολλαπλασιασμού (Πίνακας 2,3, Παπαφωτίου κ.ά., 2001).

#### Ριζοβολία

Το 70-100% των μικροβλαστών των ειδών *Arbutus*, *Q. euboica*, *D. fruticosus* και *L. zahnii* ριζοβόλησαν σε υποστρώματα που περιείχαν IBA, ενώ μικροβλαστοί των ειδών *G. alyrum* και *S. athoa* είχαν μικρότερα ποσοστά ριζοβολίας. Μικροβλαστοί του *S. athoa* είχαν υψηλότερο ποσοστό ριζοβολίας όταν το IBA συνδυάστηκε με NAA (Πίνακας 2, 3).

Δυσκολία στη ριζοβολία εμφάνισαν μικροβλαστοί του *M. florentina*. Σχετικά καλό ποσοστό ριζοβολίας (50%) επετεύχθη όταν για μια εβδομάδα οι μικροβλαστοί καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα που περιείχε IBA και IAA και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε υπόστρωμα χωρίς φυτορυθμιστικές ουσίες (Πίνακες 2,3).

Μικροβλαστοί των *E. characias* και *Th. hirsuta* δεν ριζοβόλησαν σε υποστρώματα με διάφορες συγκεντρώσεις IBA και χρειάζetai περετάρω έρευνα.

Τα βολβίδια του *L. chalcedonicum* μεταφέρονταν αρχικά σε θρεπτικό υπόστρωμα χωρίς φυτορυθμιστικές ουσίες, για 1-2 μήνες για ανάπτυξη και στη συνέχεια σε χαμηλή θερμοκρασία (4 °C) και σκοτάδι, για 4-3 μήνες, αντίστοιχα, για διακοπή του ληθάργου και ριζοβολία (Παπαφωτίου κ.ά., 2001).

#### Υπερενυδάτωση

Κατά τα στάδια του πολλαπλασιασμού και της ριζοβολίας, τα είδη *G. alyrum*, *L. zahnii* και *S. athoa* εμφάνισαν υπερενυδάτωση των ιστών. Το πρόβλημα αντιμετωπίστηκε είτε με αύξηση της συγκέντρωσης του άγαρ από 8 σε 12 ή 20 g/l ή της σακχαρόζης από 20 σε 30 g/l (Bertsouklis et al., 2003; Papafotiou & Kalantzis, 2009α, β). Καλύτερα όμως αποτελέσματα, ήτοι εξάλειψη της υπερενυδάτωσης και συγχρόνως υψηλός ρυθμός πολλαπλασιασμού ή υψηλά ποσοστά ριζοβολίας, επετεύχθησαν με τη χρήση διαφανούς μεμβράνης περιτυλίγματος (Sanitas, Σαράντης Α.Ε.), για κάλυψη την των δοχείων καλλιέργειας. Η μεμβράνη περιτυλίγματος περιτείρεψε καλύτερη αν-

ταλλαγή αερίων, γεγονός που υποστηρίζεται από το ότι υπήρξε πολύ μικρότερη συγκέντρωση υδρατμών στα τοιχώματα των δοχείων καλλιέργειας και ο όγκος του υποστρώματος ήταν πολύ μικρότερος στο τέλος της περιόδου καλλιέργειας σε σύγκριση με δοχεία καλυμμένα με διαφανές ημίσκληρο πλαστικό ή καπάκια magenta (Papafotiou & Kalantzis, 2009a). Η χρήση μεμβράνης περιτυλίγματος για κάλυψη των δοχείων καλλιέργειας αύξησε το ποσοστό ριζοβολίας και τον αριθμό των ριζών στο *Q. euboica* (Kartsonas & Papafotiou, 2007, 2010).

#### Εγκλιματισμός

Εγκλιματισμός και εγκατάσταση των φυταρίων στις *ex vitro* συνθήκες επετεύχθη σε υψηλά ποσοστά σε όλα τα είδη. Ο εγκλιματισμός όλων των ειδών έγινε σε υπόστρωμα τύρφης: περόλιτη (1:1 v/v), πλην του *Q. euboica* που δεν εγκλιματίστηκε παρά μόνο σε έδαφος από την περιοχή που αυτοφύεται στην Εύβοια. Μια μικρόριζα που βρέθηκε στο έδαφος αυτό είναι κατά πάσα πιθανότητα υπεύθυνη για την ευνοϊκή επίδραση του εδάφους αυτού στην *ex vitro* εγκατάσταση των φυταρίων *Q. euboica* (Kartsonas & Papafotiou, 2009).

**Πίνακας 1.** Τύπος εκφύτου, θρεπτικό υπόστρωμα και είδος και συγκέντρωση φυτορυθμιστικών ουσιών (PGRs) που επέφεραν τη μέγιστη βλαστογένεση κατά το στάδιο της αρχικής εγκατάστασης των *in vitro* καλλιέργειών.

Είδος φυτού	Τύπος εκφύτου	Υπόστρωμα	PGRs (mg/l)	Βιβλιογραφία
<i>A. andrachne</i>	Κόμβος τρέχουσας βλάστησης ενήλικου φυτού Κόμβος σπορόφυτου	WPM WPM ή MS	2,5 zeatin ή 2iP 2,5 zeatin	Bertsouklis & Papafotiou, 2009 Παπαφωτίου κ.ά., 2011α
<i>A. unedo</i>	Κόμβος τρέχουσας βλάστησης ενήλικου φυτού Κόμβος σπορόφυτου	WPM WPM ή MS	2.5 BA + 0.75 NAA 2,5 zeatin	Λιμνιάτης κ.ά., 2001 Παπαφωτίου et al., 2011β
<i>A. x andrachnoides</i>	Κόμβος τρέχουσας βλάστησης ενήλικου φυτού Κόμβος σπορόφυτου	WPM WPM ή MS	2,5 zeatin 2,5 zeatin	Bertsouklis & Papafotiou, 2011 Παπαφωτίου et al., 2011γ
<i>D. fruticosus</i>	Κόμβος σπορόφυτου	MS	0.5 2iP + 0.1 NAA	Papafotiou & Stragas, 2009
<i>E. characias</i>	Κόμβος βάσης σπορόφυτου	MS	0.5 BA + 0.25 NAA	Παπαφωτίου & Μήκος, 2004
<i>G. alypum</i>	Κόμβος σπορόφυτου	MS	-	Bertsouklis et al., 2003
<i>L. chalcedonicum</i>	Τεμάχια σκελίδων	MS	0.5 2,4-D + 0.5 BA	Παπαφωτίου κ.ά., 2001
<i>L. zahnii</i>	Κόμβος σπορόφυτου	MS	0.2 BA	Papafotiou & Kalantzis, 2009α
x <i>M. florentina</i>	Κορυφή βλαστού το Μάρτιο Κόμβος σπορόφυτου	MS MS	1.0 BA + 0.1 IBA 1.0 BA + 0.1 IBA	Papafotiou & Martini, 2009α Μαρτίνη & Παπαφωτίου, μη δημοσιευμένο
<i>Q. euboica</i>	Κορυφή βλαστού το Μάιο	WPM	1.0 BA	Kartsonas & Papafotiou, 2007α
<i>S. athoa</i>	Κόμβος σπορόφυτου	MS	0.2 BA	Papafotiou & Kalantzis, 2009β
<i>Th. hirsuta</i>	Κόμβος σπορόφυτου	MS	1.0 BA	Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2004

**Πίνακας 2.** Είδος και συγκέντρωση φυτορυθμιστικών ουσιών (PGRs) του θρεπτικού υποστρώματος που επέφεραν τη μέγιστη αντίδραση των εκφύτων κατά το στάδιο του πολλαπλασιασμού των καλλιεργειών και της ριζοβολίας.

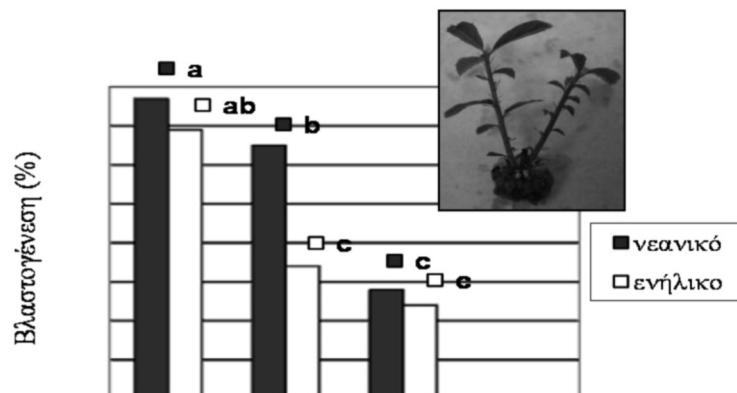
Είδος φυτού	Υπόστρωμα πολλαπλασιασμού PGRs (mg/l)	Βιβλιογραφία	Υπόστρωμα ριζοβολίας PGRs (mg/l)	Βιβλιογραφία
<i>A. andrachne</i>	2.5 zeatin ή 2.5 2iP	Bertsouklis & Papafotiou, 2009	1 IBA	Bertsouklis & Papafotiou, 2009 Παπαφωτίου κ.ά., 2011α
<i>A. unedo</i>	2.5 BA + 1.25 NAA ή 2.5 zeatin	Λιμνιάτης κ.ά., 2001  Παπαφωτίου, Τρίγκα & Μπερτσουκλής μη δημοσιευμένο	1 IBA	Λιμνιάτης κ.ά., 2001  Παπαφωτίου κ.ά., 2011β
<i>A. x andrachnoides</i>	2.5 zeatin	Bertsouklis & Papafotiou, 2011	1 IBA	Bertsouklis & Papafotiou, 2011 Παπαφωτίου κ.ά., 2011γ
<i>D. fruticosus</i>	0.5 2iP + 0.1 NAA	Papafotiou & Stragas, 2009	2 IBA	Papafotiou & Stragas, 2009
<i>E. characias</i>	0.2 BA + 0.1 NAA	Παπαφωτίου & Μήκος, 2004	Δεν επετεύχθη	Παπαφωτίου & Μήκος, 2004
<i>G. alypum</i>	-	Bertsouklis et al., 2003	0.1 IBA	Bertsouklis et al., 2003
<i>L. chalcedonicum</i>	0.5 2,4-D + 0.5 BA	Παπαφωτίου et al., 2001	-*	Παπαφωτίου κ.ά., 2001
<i>L. zahnii</i>	0.2 BA ή 0.2 IBA	Papafotiou & Kalantzis, 2009α	0.2 IBA	Papafotiou & Kalantzis, 2009α
x <i>M. florentina</i>	1.0 BA + 0.1 IBA ή 0.1 TDZ	Papafotiou & Martini, 2009α Martini & Papafotiou, 2011	1 IBA + 8 IAA for one week	Papafotiou & Martini, 2009α
<i>Q. euboica</i>	1.0 BA	Kartsonas & Papafotiou, 2007α	2 IBA	Kartsonas & Papafotiou, 2007α
<i>S. athoa</i>	0.2 BA ή 2.0 IBA	Papafotiou & Kalantzis, 2009β	2 IBA + 1 NAA	Papafotiou & Kalantzis, 2009β
<i>Th. hirsuta</i>	1.0 BA	Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2004	Δεν επετεύχθη	Κάρτσωνας & Παπαφωτίου, 2004

\*: υπόστρωμα χωρίς φυτορυθμιστικές ουσίες, σε θερμοκρασία 4 °C

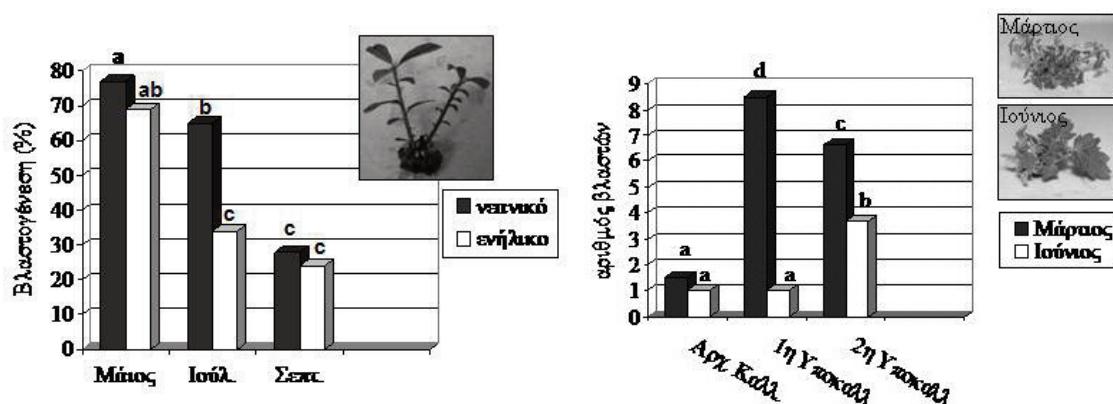
**Πίνακας 3.** Αντίδραση των διαφόρων φυτικών ειδών κατά τις φάσεις της αρχικής καλλιέργειας, του πολλαπλασιασμού και της ριζοβολίας, όταν καλλιεργούνταν στα ενδεδειγμένα ως φέροντα τη μέγιστη απόδοση υποστρώματα (που παρουσιάζονται στους Πίνακες 1 και 2).

Είδος φυτού	Βλαστογένεση (%) κατά την αρχική καλλιέργεια	Αριθμός βλαστών ανά έκφυτο κατά την αρχική καλλιέργεια	Μέσο μήκος βλαστού κατά την αρχική καλλιέργεια	Γινόμενο πολλ./μού στις υποκαλλιέ ργειες	Ριζοβολία (%)
<i>A. andrachne</i>	100	3,8-4,7*	1,3	3,9	90-100*
<i>A. unedo</i>	80-100*	2,0	0,9	1,2	70-95*
<i>A. x andrachnoides</i>	100	1,6-3,0*	1,0	2,4	95-90*
<i>D. fruticosus</i>	100	2,0	0,6	3,6	94
<i>E. characias</i>	68	1,3	2,6	0,9	0
<i>G. alypum</i>	100	1,7	0,5	2,3	52
<i>L. chalcedonicum</i>	83	3,0**		3,4	81
<i>L. zahnii</i>	90	3,7	1,6	2,6	93
<i>x M. florentina</i>	33-83*	3,7	3,8	4,0	32-58*
<i>Q. euboica</i>	75	1,7	3,2	1,4	95
<i>S. athoa</i>	63	3,6	0,7	3,5	53
<i>Th. hirsuta</i>	100	3,4	2,7	6,1	0

\*: έκφυτα από σπορόφυτα, \*\*: αριθμός βολβιδίων



**Σχήμα 1.** Επίδραση της εποχής στη παραγωγή βλαστών από έκφυτα *Q. euboica* κατά την αρχική εγκατάσταση της καλλιέργειας *in vitro*. Σύγκριση των μέσων με Student's LSD.



**Σχήμα 2.** Επίδραση της εποχής στο αριθμό βλαστών που έδωσαν έκφυτα *x M. florentina* κατά τις φάσεις της αρχικής εγκατάστασης και του πολλαπλασιασμού των καλλιεργειών (1η και 2η Υποκαλλιέργεια). Σύγκριση των μέσων με Student's LSD.

## Βιβλιογραφία

- Ακουμπιανάκη-Ιωαννίδου, Α., Νικολάου, Κ. και Κυριάκου, Γ. 2011. Διερεύνηση του πολλαπλασιασμού του *Convolvulus oleifolius* αυτοφυούς φυτού της Κυπριακής χλωρίδας. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Βέροια 2009, τ. 14(B):351-355.
- Berardi, G., Roncasaglia, R., Dradi, G. and Scaravelli, D. 2006. In vitro propagation of *Dianthus balbisii* Ser. Subsp. *liburnicus* (Bart.) Pign. by shoot tip culture. *Acta Hort.* 725:427-430.
- Bertsouklis, K.F. and Papafotiou, M. 2009. *In vitro* propagation of *Arbutus andrachne* L. *Acta Hort.* 813:477-480.
- Bertsouklis K.F. and Papafotiou, M. 2010a. Effect of storage on *Arbutus andrachne* seed germination. *Acta Hort.* 885:65-71.
- Bertsouklis K.F. and Papafotiou, M. 2010b. Studies on propagation of *Globularia alypum* L., an outstanding xerophyte of Greece with potential ornamental use. *Acta Hort.* 885:73-77.
- Bertsouklis, K.F. and Papafotiou, M. 2011. Effect of various cytokinins on micropropagation of *Arbutus andrachnoides* Link. *Acta Hort.* 923:213-218.
- Bertsouklis, K., Papafotiou, M. and Balotis, G. 2003. Effect of medium on *in vitro* growth and *ex vitro* establishment of *Globularia alypum*. *Acta Hort.* 616:177-180.
- Blamey, M. and Grey-Wilson, C. 1993. Mediterranean Wild Flowers. Harper Collins Publishers, London.
- Cabrera-Perez, M.A. 1995. Explant establishment in the micropropagation of *Globularia ascanii*, a threatened species from Gran Canaria. *Botanic Gardens Micropropagation News* 1:1-5.
- Christiensen, K.I. 1995. *Quercus euboica* Pap. In: Phitos D., Strid A., Snogerup S. & Greiter W. (eds). The Red Data Book of rare and threatened plants of Greece. Financed by the World Wide Fund for Nature (WWF), pp. 434-435.
- Gonçalves, J.C. and Roseiro, R.J. 1994. Establishment and *in vitro* multiplication of *Arbutus unedo* L. seedlings, VIII International Congress of Plant Tissue and Cell Culture. Abst 20 Firenze.
- Cristea, V., Puscas, M., Miclaus, M. and Deliu, C. 2006. Conservative micropropagation of some endemic or rare species from the *Dianthus* genus. *Acta Hort.* 725:357-363.
- Debnath, S.C. and McRae, K.B. 2001. An efficient *in vitro* shoot propagation of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait) by axillary bud proliferation. *In Vitro Cel. & Devel. Biol. Plant* 37:243-249.
- Dragassaki, M., Economou, A.S. and Vlahos, J.C. 2003. Formation *in vitro* and plantlet survival *extra vitrum* in *Plantocratum maritimum* L. *Acta Hort.* 616:347-350.
- Fernandes-Ferreira, M., Pais, M.S.S., Novais, J. 1992. The effect of medium composition on biomass and triterpenols production by *in vitro* cultures of *Euphorbia characias*. *Bioresource Technol.* 42:67-73.
- El-Sayed El-Mahrouk, M., Dewir, Y.H. and Omar, A.M.K. 2010. *In vitro* propagation of adult strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) through adventitious shoots and somatic embryogenesis. *Propag. Ornam. Plants* 10:93-98.
- Goliaris, A. and Roupakias, D. 1997. Yield Performance of interspecific F1 hybrids of the Greek mountain tea (*Sideritis spp* L.). *Plant Breed.* 166: 493-497.
- Gomes, F., Simões, M., Lopes, M. and Canhoto, J. 2010. Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree). *New Biotechnology* 27: 882-892.
- Gomes, F. and Canhoto, J. 2009. Micropropagation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from adult plants. *In Vitro Cell. Develop. Biol.* 45:72-82.
- Heide, O.M. 1974. Growth and dormancy in Norway spruce ecotypes II. After-effects of photoperiod and temperature on growth and development in subsequent year. *Physiol. Plant.* 31:131-139.
- Huxley, A. and Taylor, W. 1977. Flowers of Greece and the Aegean. Chatto and Windus, London.
- Κάρτσωνας, Ε., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2001. Μελέτη του πολλαπλασιασμού του *Quercus euboica* *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ηράκλειο 1999, 9: 371-374.
- Κάρτσωνας, Ε. και Παπαφωτίου, Μ. 2004. Διερεύνηση μεθόδων πολλαπλασιασμού της *Thymelaea hirsuta* *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ιωάννινα 2003, 11(B):417-420.
- Kartsonas, E. and Papafotiou, M. 2007. Mother plant age and seasonal influence on *in vitro* propagation of *Quercus euboica* Pap., an endemic, rare and endangered oak species of Greece. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 90:111-116.
- Κάρτσωνας, Ε. και Παπαφωτίου, Μ. 2007a. Διερεύνηση της ριζοβολίας του *Quercus euboica* *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, 12(B):199-202.
- Κάρτσωνας, Ε. και Παπαφωτίου, Μ. 2007b. Επίδραση του υλικού κάλυψης των δοχείων της *in vitro* καλλιέργειας σε μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά φύλλων του *Quercus euboica*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, 12(a):157-160.
- Kartsonas, E. and Papafotiou, M. 2009. Micropropagation of *Quercus euboica* Pap., a rare, endemic, oak species of Greece. *Acta Hort.* 813:485-490.
- Κάρτσωνας, Ε.Δ. και Παπαφωτίου, Μ. 2009. Διερεύνηση του εγκλιματισμού φυταρίων *Quercus euboica* σε *ex vitro* συνθήκες. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, 13(B): 569-572.
- Kartsonas, E. and Papafotiou, M. 2010. Effect of culture vessels covering material on leaf morphological and anatomical characteristics of *Quercus euboica* *in vitro* plantlets. *Acta Hort.* 885:191-196.
- Καρβάδας, Σ. Δ. 1956. Εικονογραφημένον Βοτανικόν Φυτολογικόν Λεξικόν. Τόμος Β. Αθήνα: 532-533.
- Κουτρή, Α. και Παπαφωτίου, Μ. 2011a. Επίδραση κομπόστας υπολειμμάτων εκκοκκισμού βάμβακος και κομπόστας στεμφύλων στην ανάπτυξη της ρίγανης ως καλλωπιστικού φυτού σε φυτοδώμα. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Κουτρή, Α. και Παπαφωτίου, Μ. 2011b. Χρήση κομπόστας υπολειμμάτων εκκοκκισμού βάμβακος και κομπόστας στεμφύλων στο υπόστρωμα καλλιέργειας του φασκόμηλου ως καλλωπιστικού φυτού σε φυτοδώμα. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Kovac, J. 1995. Micropropagation of *Dianthus arenarius* subsp. *Bohemicus* – an endangered endemic from the Czech Republic. *Bot. Gard. Micropop. News* 1:106-108.
- Λιμνιάτης, Π., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2001. Μελέτη του πολλαπλασιασμού του *Arbutus unedo* L. *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ηράκλειο 1999, 9: 453-456.
- Μαλούπα, Ε., Ζερβάκη, Δ., Γρηγοριάδου, Κ. και Παπαναστάση, Κ. 2004. Διατήρηση και πολλαπλασιασμός έξι αυτοφυών φυτών της Ελληνικής χλωρίδας. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ιωάννινα 2003, 11(B): 355-358.

- Martini A. and Papafotiou, M. 2009. *In vitro* rooting of X *Malosorbus florentina* Zucc. microshoots. Acta Hort. 813:491-496.
- Martini, A. and Papafotiou, M. 2011. Effect of thidiazuron on blastogenesis and subsequent rhizogenesis of X *Malosorbus florentina* Zucc. Acta Hort. 923:169-176.
- Μαρτίνη, Α. και Παπαφωτίου, Μ. 2009. Επίδραση φυτορυθμιστικών ουσιών και ενεργού άνθρακα στην *in vitro* ριζοβολία μικροβλαστών του X*Malosorbus florentina* Zucc. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, τ. 13(β): 585-588.
- Μαρτίνη, Α.Ν. και Παπαφωτίου, Μ. 2011α. Επίδραση του thidiazuron στην *in vitro* βλαστογένεση και ριζογένεση του X*Malosorbus florentina*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Βέροια 2009, τ.14(β): 363-368.
- Μαρτίνη, Α.Ν. και Παπαφωτίου, Μ. 2011β. Επίδραση της γιββερελίνης στο δυναμικό πολλαπλασιασμού *in vitro* καλλιέργειας του x*Malosorbus florentina* ZUCC. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Μαρτίνη, Α.Ν. και Παπαφωτίου, Μ. 2011γ. Επίδραση των κυτοκινινών στην *in vitro* βλαστογένεση και στην ακόλουθη ριζογένεση του σπάνιου αυτοφυούς φυτού x*Malosorbus florentina* ZUCC. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Μαρτίνη, Α.Ν. και Παπαφωτίου, Μ. 2011δ. Διερεύνηση του εγκλιματισμού φυταρίων του x*Malosorbus florentina* ZUCC Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Μαυραγάνης, Δ., Κώστας, Σ., Σύρος, Θ. και Οικονόμου, Α. 2007. Διερεύνηση της ριζοβολίας μοσχευμάτων αυτοφύων κλάνων σχίνου. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, τ. 12(A): 201-204.
- McCown, B.H. and Lloyd, G. 1981. Woody plant medium (WPM)-a revised mineral formulation for micro-culture of woody plant species. HortScience 16:453.
- Mereti, M., Grigoriadou, K. and Nanos, G.D. 2002. Micropagation of the strawberry tree, *Arbutus unedo* L. Scient. Hort. 93:143-148.
- Meszaros, A., Bellon, A., Printer, E. and Horvath, G. 1999. Micropagation of lemon balm. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 57:149-152.
- Misic, D., Grubisic, D. and Konjevic, R. 2006. Micropagation of *Salvia brachyodon* through nodal explants. Biol. Plant. 50: 473-476.
- Μπερτσουκλής, Κ.Φ. και Παπαφωτίου, Μ. 2009. Διατήρηση βλαστικότητας σπόρων του *Arbutus andrachne* L. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, 13(β):561-564.
- Μπερτσουκλής, Κ.Φ. και Παπαφωτίου, Μ. 2011α. Μελέτη του *in vitro* πολλαπλασιασμού του *Arbutus x andrachnoides*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Βέροια 2009, 14: 385-389
- Μπερτσουκλής, Κ.Φ. και Παπαφωτίου, Μ. 2011β. Μελέτη του πολλαπλασιασμού του *Globularia alypum* L., ξηροφυτικού αυτοφυούς με δυνατότητα χρήσης ως καλλωπιστικού φυτού. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Βέροια 2009, τ. 14: 391-396.
- Μπερτσουκλής, Κ.Φ. και Παπαφωτίου, Μ. 2011γ. Μελέτη της βλαστικότητας σπόρων των Ελληνικών ειδών του γένους *Arbutus*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Μπερτσουκλής, Κ.Φ., Παπαφωτίου, Μ., Μπινιάρη, Κ. και Χρονόπουλος, Ι. 2007. Μελέτη ατόμων του γένους *Arbutus*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, 12(β):187-190.
- Μπερτσουκλής, Κ., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2001. Διερεύνηση μεθόδων πολλαπλασιασμού της *Globularia alypum* L. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ηράκλειο 1999, 9:461-464.
- Μπερτσουκλής, Κ., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2003. Διερεύνηση της δυνατότητας *in vitro* πολλαπλασιασμού του *Arbutus andrachne* L. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λάρνακα 2001, 10:627-630.
- Μπερτσουκλής, Κ., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2004α. *In vitro* πολλαπλασιασμός του *Arbutus andrachne* L. με έκφυτα από σπορόφυτα. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ιωάννινα 2003,11(β):437-440.
- Μπερτσουκλής, Κ., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2007α. Επίδραση κυτοκινινών στη βλαστογένεση του *Arbutus andrachne*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, τ. 12(a):153-156.
- Μπερτσουκλής, Κ., Παπαφωτίου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2007β. Διερεύνηση της ριζοβολίας του *Arbutus andrachne* *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, τ. 12(β):215-218.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum 15:473-497.
- Norton, M.E. and Norton, C.R. 1984. *In vitro* propagation of Ericaceae: A comparison of the activity of the cytokinines N<sup>6</sup>-benzyladenine and N<sup>6</sup>-isopentenyladenine in shoot proliferation. Sci. Hort. 27:335-340.
- Παπαναστασάτος, Ε.Α. και Παπαφωτίου, Μ. 2011α. Επίδραση του είδους και του βάθους του υποστρώματος και της συχνότητας άρδευσης στην ανάπτυξη του *Origanum majorana* L. σε συνθήκες φυτοδώματος. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Παπαναστασάτος, Ε.Α. και Παπαφωτίου, Μ. 2011β. Επίδραση του υποστρώματος και της συχνότητας άρδευσης στην ανάπτυξη του *Santolina chamaecyparissus* L. σε συνθήκες φυτοδώματος. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Παπαφωτίου, Μ. 2009. Ελληνική ανθοκομία φιλική προς το περιβάλλον και για το περιβάλλον. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, τ. 13(β): 457-464.
- Papafotiou, M. and Kalantzis, A. 2009α. Studies on *in vitro* propagation of *Lithodora zahnii*. Acta Hort. 813: 465-470.
- Papafotiou, M. and Kalantzis, A. 2009β. Seed germination and *in vitro* propagation of *Sideritis athoa*. Acta Hort. 813: 71-476.
- Παπαφωτίου, Μ. και Καλαντζής, Α. 2009α. Μελέτη του πολλαπλασιασμού του ενδημικού της ελληνικής χλωρίδας *Lithodora zahnii* *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, 13(β): 593-596.
- Παπαφωτίου, Μ. και Καλαντζής, Α. 2009β. Εγγενής πολλαπλασιασμός και μικροπολλαπλασιασμός του αυτοφυούς της ελληνικής χλωρίδας *Sideritis athoa*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, 13(β): 665-668.
- Papafotiou, M. and Martini, A. 2009α. Effect of growth medium on *in vitro* shoot regeneration of X *Malosorbus florentina* Zucc. Acta Hort. 813:497-501.
- Papafotiou, M. and Martini, A. 2009β. Influence of season and sterilization method on response of X *Malosorbus florentina* buds to *in vitro* culture. Acta Hort. 813: 503-508.
- Παπαφωτίου, Μ. και Μήκος, Χ. 2004. Επίδραση εκφύτου και φυτορυθμιστικών ουσιών στην *in vitro* βλαστογένεση της *Euphorbia characias*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ιωάννινα 2003, 11(β): 445-448.
- Papafotiou, M. and Stragas, J. 2009. Seed germination and *in vitro* propagation of *Dianthus fruticosus* L. Acta Hort. 813: 481-484.

- Παπαφωτίου, Μ. και Στράγκας, Γ. 2009. Βλαστηκότητα σπόρου και μικροπολλαπλασιασμός του ενδημικού της Ελληνικής χλωρίδας *Dianthus fruticosus* L. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, 13(β): 565-568.
- Papafotiou, M., Balotis, G.N., Louka, P.T. and Chronopoulos, J. 2001. *In vitro* plant regeneration of *Mammillaria elongata* normal and cristate forms. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 65:163-167.
- Papafotiou M., Garavelos, E., Antonopoulos, C and Chronopoulos, J. 2000a. Studies on growth manipulation of *Euphorbia characias* L. *Acta Hort.* 541: 201 206.
- Papafotiou, M., Garavelos, E. and Chronopoulos, J. 2000β. Effect of growing medium and fertilization on growth habit and colour of *Lavandula stoechas* L. *Acta Hort.* 541: 349-351.
- Παπαφωτίου, Μ., Μαυρία, Α., Λιψιάτης, Π. και Μπερτσουκλής, Κ.Φ. 2007. Διερεύνηση της *in vitro* ριζοβολίας και του εγκλιματισμού του *Arbutus unedo*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Πάτρα 2005, 12(β): 207-210.
- Παπαφωτίου, Μ., Ράππου, Μ. και Χρονόπουλος, Ι. 2001. *In vitro* πολλαπλασιασμός του *Lilium chalcedonicum* L. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ηράκλειο, 1999, 9: 400-403.
- Παπαφωτίου Μ., Ροζάκης, Φ. και Ρόμπου, Ε. 2003. Έλεγχος της βλαστικής ανάπτυξης της *Phlomis fruticosa* L. με paclobutrazol. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λάρνακα 2001, 10: 635-638.
- Papafotiou M., Triandaphyllou, N. and Chronopoulos, J. 2000. Studies on propagation of species of the xerophytic vegetation of Greece with potential floricultural use. *Acta Hort.* 541:269-272.
- Παπαφωτίου, Μ., Τρίγκα, Μ. & Μπερτσουκλής, Κ. 2011a. Επίδραση της zeatin και του thidiazuron στην *in vitro* βλαστογένεση από νεανικούς ιστούς *Arbutus andrachne* L. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Παπαφωτίου, Μ., Τρίγκα, Μ. & Μπερτσουκλής, Κ. 2011β. Διερεύνηση της βλαστογένεσης του *Arbutus unedo* L. από έκφυτα νεανικών ιστών. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Παπαφωτίου, Μ., Τρίγκα, Μ. & Μπερτσουκλής, Κ. 2011γ. Επίδραση των κυτοκινινών στην *in vitro* βλαστογένεση από νεανικούς ιστούς *Arbutus x andrachnoides* LINK. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Περγιαλιώτη, Ν. και Παπαφωτίου, Μ. 2011a. Επίδραση είδους και βάθους υποστρώματος και συχνότητας άρδευσης στην ανάπτυξη του *Helichrysum italicum* Roth. σε συνθήκες φυτοδώματος. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Περγιαλιώτη, Ν. και Παπαφωτίου, Μ. 2011β. Μελέτη της ανάπτυξης του *Helichrysum orientale* L. Vaill. σε συνθήκες φυτοδώματος υπό την επίδραση διαφορετικού είδους και βάθους υποστρώματος και συχνότητας άρδευσης. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Polunin, O. 1987. Flowers of Greece and the Balkans, a field guide. Oxford University Press, Hong Kong.
- Prolic, M., Radic, S. and Pevalek-Kozlina, B. 2002. *In vitro* propagation of *Dianthus giganteus* ssp. *croaticus*. *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* 44: 107-110.
- Puddephat, I.J., Alderson, P.G. and Wright, N.A. 1997. Influence of explant source, plant growth regulators and culture environment on culture initiation and establishment of *Quercus robur* L. *in vitro*. *J. Exp. Bot.* 48:951-962.
- Ράλλη, Π. και Δόρδας, Χ. 2011. Μελέτη μορφολογικών χαρακτηριστικών και δημογραφικών παραμέτρων αυτοφυών ειδών κρόκου. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Βέροια 2009, 13(B): 357-362.
- Ροντογιάννη, Α. 2009. Επίδραση του Ethephon στην βλαστηκότητα σπερμάτων ψευδοπλάτανου (*Acer pseudoplatanus* L.). Πρακτικά ΕΕΕΟ, Χανιά 2007, 13(B): 541-544.
- Σύρος, Θ. και Οικονόμου, Α. 2001. Επίδραση της θερμοκρασίας και της φωτοπεριόδου στην άνθηση του έβενου. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ηράκλειο 1999, 16:420-424.
- Τασούλα, Λ. και Παπαφωτίου, Μ. 2011a. Επίδραση της σύστασης και του βάθους του υποστρώματος και της συχνότητας άρδευσης στην ανάπτυξη του *Origanum dictamnus* L. σε συνθήκες φυτοδώματος. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Τασούλα, Λ. και Παπαφωτίου, Μ. 2011β. Επίδραση του υποστρώματος και της συχνότητας άρδευσης στη βλαστική ανάπτυξη της *Artemisia absinthium* L. σε συνθήκες φυτοδώματος. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Λεμεσός 2011, υπό εκτύπωση.
- Vieitez, A.M., Pintos, F., San-Jose, M.C. and Ballester, A. 1993. *In vitro* shoot proliferation determined by explant orientation of juvenile and mature *Quercus rubra* L. *Tree Physiol.* 12:107-117.
- Χατζηλαζάρου, Σ., Ιωακείμ, Μ., Κώστας, Σ. και Οικονόμου, Α. 2011. Διερεύνηση της τεχνικής παραγωγής έγκλειστων βλαστικών τμημάτων πικροδάφνης σε αλγινικό ασβέστιο για πολλαπλασιασμό *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Βέροια 2009, 14(B):379-383.
- Χατζηλαζάρου, Σ., Οικονόμου, Α., Ράλλη, Π. και Μπότσης, Π. 2001. Επίδραση διαφόρων κυτοκινινών στην αναγέννηση της μυρτιάς *in vitro*. Πρακτικά ΕΕΕΟ, Ηράκλειο 1999, 6:509-512.